

[文章编号] 1007-385X(2005)02-0085-04

NK 细胞识别的新模式——压力诱导模式

魏海明, 邬 鹏, 田志刚(中国科学技术大学生命科学学院, 中国科学技术大学免疫学研究所, 合肥 230027)

T、B 细胞通过 TCR 和 BCR 介导抗原识别模式, 巨噬细胞通过模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)介导病原体相关的分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)或凋亡细胞相关的分子模式(apoptotic cell associated molecular pattern, ACAMP), 比 TCR、BCR 和 PRR 更为复杂的是 NK 细胞的受体, 迄今为止, 已发现有数十种之多, 分属抑制性受体和活化性受体两大类。各大类又包括数个家族, 体现了 NK 细胞受体的多样性, 介导了 NK 细胞的不同识别模式, 分别传递不同的活化信号和抑制信号^[1,2]。NK 细胞的识别虽然体现复杂的多样性, 但是作为生命现象的本质而言, 一定有其内在的规律性, 为了启动 NK 细胞的活化信号, 各种受体会在不同程度上对相应配体的结构、功能赋予特定要求, 以保证 NK 的正确识别, 寻找 NK 细胞识别的内在规律或曰识别模式, 对 NK 细胞的免疫学功能研究具有重要意义。近两年发现, NK 细胞通过 NKG2D 启动活化信号, 该受体是一类非常重要的非 MHC 型活化性受体, 其在靶细胞表面的配体已被发现, 在人类为 MICA, MICB; 在鼠类为 Rae1, H60, 这类配体序列不同而且结构上差异很大, 但均可被 NKG2D 所识别, 我们借助系统生物学方法对这类分子的转录调控、翻译折叠和结构功能进行分析, 首次提出其识别的本质为“压力诱导模式”, 英文名暂定为“Stress-inducible Pattern”, 本文籍此加以阐述。由于 NKG2D 在许多免疫效应细胞上有所表达, 包括 NK 细胞、NKT 细胞、CD8⁺αβT 细胞和 γδT 细胞, 该识别模式可能具有更广泛的意义。

1 从抑制性受体到 NK 细胞的“丢失自我”识别模式

对 NK 细胞识别本质的认识, 首先来自于抑制性受体的发现, 在小鼠肿瘤模型中较早发现去除 NK 细胞后肿瘤的生长加快, 但是当肿瘤细胞的 MHC-I 类分子丢失后, 成瘤性受到明显抑制。RMA 是一种 T 淋巴瘤细胞系, 在同基因鼠体内的生长迅速, 其 MHC-I 类分子丢失后形成的变异株 RMA-S, 在同基因鼠体内的生长受到抑制。该实验最早提示 NK 细胞表面可能有针对 MHC-I 类分子的抑制性受体, 之后有关 NK 细胞

抑制性受体的研究工作得到快速发展, 陆续发现人杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR_s)、啮齿动物淋巴细胞抗原 49 复合体(LY49)和 CD94/NKG2A 等(表 1)一系列受体, 这类受体的胞浆区均含有 ITIM_s, 籍此可招募胞内酪氨酸磷酸化酶 SHP/SHD-2, 介导免疫抑制^[3]。表达此类受体的基因在染色体上形成一个基因复合体(NKC), 在鼠内定位于 6 号染色体, 在人类定位于 12 号染色体上。一些受体与其配体的结构已被解析^[4]。

表 1 NK 细胞抑制性受体及其配体

种属	受体	配体
鼠	Ly49	H-2K, h-2D
鼠	CD94/NKG2A	Qa -1 ^b
人	KIR2DL	HLA-C
人	KIR3DL	HLA-B _w 4, HLA-A
人	CD94/NKG2A (CD159a)	HLA-E
人	CD85j CD85d	HLA-I

抑制性受体识别的特征是细胞表面自身的分子特征, 并将任何缺乏这种分子特征的细胞作为外源或突变物质处理, 这种分子特征就是 MHC-I 类分子, 被病毒感染的细胞和肿瘤细胞可以通过 MHC-I 类分子表达的缺失而逃逸 CD8⁺T 细胞的监测和杀伤, 但同时也使被病毒感染的细胞和肿瘤细胞成为 NK 细胞监测和杀伤的目标。因为每种 NK 细胞都至少包含一种 MHC-I 分子抑制性受体, 这些抑制受体与 MHC-I 分子的结合可以抑制 NK 细胞的功能。一旦 MHC 分子

[基金项目] 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2001CB-510009, 2003CB515501); 国家杰出青年科学基金(30125038); 国家自然科学基金重点项目(30230340); 国家自然科学基金面上项目(30371308, 30471585)

[作者简介] 魏海明(1963-), 男, 教授, 主要从事分子免疫学方面的研究

缺失,抑制 NK 细胞杀伤功能的因素就此消失, NK 由此被激活而发挥杀伤功能。该理论被称为“丢失自我 (missing self)”识别模式。

2 从活化性受体到 NK 细胞的“压力诱导”识别模式

相对抑制性受体,活化性受体的研究比较滞后。近几年,一些活化性受体才被相继发现(表 2)^[5]。这类受体分为 MHC 型和非 MHC 型。MHC 型活化性受体一般

与 MHC 性抑制性受体相互交联表达在 NK 细胞表面,如 KIR 家族中的 KIR2DS 和 KIR3DS,其胞浆区缺乏 ITIM 结构,但跨膜区有带正电的赖氨酸,此结构为 KIR2DS 提供了与 DAP12 结合的分子基础,最近,该分子的结构也被结晶解析^[6]。DAP12 的结构与 FCR γ 链以及 CD3 分子中 ζ 链十分相似,胞浆区带有 ITAM,从而使 KIR2DS/DAP12 复合物介导活化性信号^[7],总之,这类分子的功能尚未引起人们的足够重视。

表 2 NK 细胞活化性受体及其配体

种属	受体	接头分子	传导途径	配体
鼠,人	CD16	Fc ϵ RI γ 或 CD3 ξ	ZAP70/Syk	IgG
人	NKp30	Fc ϵ RI γ 或 CD3 ξ	ZAP70/Syk	?
鼠,人	NKp46	Fc ϵ RI γ 或 CD3 ξ	ZAP70/Syk	流感血凝素,其它
鼠	NKR-P1C	Fc ϵ RI γ 或 CD3 ξ	ZAP70/Syk	
人	KIR2DS	DAP12	ZAP70/Syk	HLA-C, 其它
鼠,人	CD94/NKG2C	DAP12	ZAP70/Syk	HLA-E(Qa-1)
鼠	Ly49D	DAP12	ZAP70/Syk	H-2D ^d
鼠	Ly49H	DAP12	ZAP70/Syk	m157 等
人	NKp44	DAP12	ZAP70/Syk	流感血凝素,其它
鼠,人	NKG2D	DAP10	PI3 k	MIC, ULBP(RAE-1, H60)
鼠,人	CD244	SAP	?	CD48

非 MHC 型受体主要包括 NKG2D 以及一些辅助性受体。其中 NKG2D 是一类非常重要的非 MHC 型活化性受体^[8],依据“丢失自我”理论,NK 细胞可以表达多种抑制性受体,正常情况下处于杀伤抑制状态,当 MHC- I 类分子丢失时,这种抑制作用也随之消失,NK 细胞从而被激活。但是,NKG2D 分子似乎不受上述理论的限制,当病毒感染的细胞或肿瘤细胞由于受到环境压力而表达 NKG2D 配体时,随之被 NK 细胞识别,后者也因此而被激活。也就是说由 NKG2D 所介导的激活信号对抑制性受体所介导的负调节信号不敏感。这也就是为什么一些可以正常表达 MHC- I 分子的靶细胞也能被 NK 细胞清除的原因,正是这一特性使 NKG2D 的研究倍受人们的重视^[9-12]。

NKG2D 由位于人 12 号染色体 p12-p13 的 NK 复合体中的一个基因编码,该基因紧临 NKG2A, NKG2C, NKG2E 分子的编码基因。比较人类和小鼠 NKG2D 的编码基因发现该基因在进化上存在保守性。NKG2D 的配体很多,在人类分子中包括 MICA, MICB, ULBP1, 2,3(UL 16-binding protein)^[13-16],在小鼠中包括 H60 和

Rae-1^[17],为什么 NKG2D 受体可以识别多种不同的配体分子? 通过对 NKG2D 分子以及 NKG2D 与 MICA, ULBP-3 和 Rae-1 复合物的晶体结构研究发现,NKG2D 在识别不同配体时使用一种诱导-适应机制(induced-fit mechanism),这种机制使受体分子可以容忍配体的高度变异性,因为 NKG2D 具有一弹性结合“口袋”使其具备结合多种配体的能力。即使如此,NKG2D 与其配体结合的亲和力也比免疫系统中其他任何配体-受体之间结合的亲和力都高。

借助系统生物学方法对 NKG2D 各种配体的转录调控、翻译折叠和结构功能进行分析,发现这类分子在转录翻译时均需要热休克因子(HSF)的参与,该转录因子通常需要在压力诱导(stress-inducible)下才能发挥转录调控作用,这种压力诱导可以包括病毒感染、恶性转化、化学刺激和炎症反应等。一旦机体受到此类压力诱导,HSF 会促进 MICA 等分子的表达,从而被 NKG2D 所识别,激活 NK 细胞,发挥杀伤功能。从这种意义上说,NK 细胞识别的是一种“压力诱导”模式。

3 压力诱导模式的主要论点

上述分析提示, NK 细胞与 T、B 细胞识别的区别在于 T、B 细胞识别的是特定的抗原肽段, 而 NK 细胞识别的是“压力诱导”下组成性表达的蛋白质分子, 这也是“压力诱导”模式的核心所在。

急性和慢性“压力”是机体细胞始终所面临的挑战, 为了适应环境改变, 修复各种损伤, 真核细胞采用多种应激方式去检测和控制压力对自身的影响, 热休克应答是这种应激方式的主要体现, HSF 对这种压力应答具有重要的调控作用, 在无压力的细胞中, HSF 在胞浆中以惰性单体形式结合 HSP70 或其它分子伴侣, 一旦环境中出现压力胁迫, 单体 HSF 移位至核内, 聚合成三体状态, 结合在 HSP 基因上游 HSE 中, 进而使 HSP 转录激活^[18]。一些非天然蛋白如 MICA, MICB, ULBP 等也受到类似 HSF 的调控, 推测也可以随之组成性表达, NK 细胞通过其 NKG2D 受体, 识别这类压力

诱导的“自身蛋白”, 随着 HSP 合成的增加, HSP70 和其他分子伴侣重定位至核内, 并与 HSF 结合, 抑制 hsp 基因的转录, 导致三聚体 HSF 的解离, 并重新形成惰性单体状态, 维持细胞的稳定, 如果压力胁迫持续存在, “自身蛋白”不断增加, 该细胞将被 NK 细胞所识别而清除。

因此 NK 细胞和靶细胞能形成三种关系: ①免疫忽视(ignorance): NK 细胞通过抑制性受体(inh NKR)识别正常细胞中的 MHC-I 类分子, 获得抑制信号, 靶细胞免于杀伤; ②免疫耐受: 环境中出现一定程度的压力时, 仅仅表达低水平的“压力诱导”分子(如 MICA 分子), 后者作为 NKG2D 的配体(NKG2D-L)与 NKG2D 结合所形成的活化信号不足以克服抑制信号, 从而造成免疫耐受; ③当环境中出现严重“压力”胁迫时, NKG2D-L 大量表达, 单独地或与 NK 细胞受体的配体(NCR-L)共同提供强烈的活化信号, 导致靶细胞的杀伤(图 1)。

图 1 NK 细胞识别与杀伤模式

依据上述推理,压力诱导模式的主要论点为:①环境压力(热休克、紫外线、病毒感染、恶性转化和致癌物质等方式)作用于靶细胞;②靶细胞在“压力诱导”作用下,热休克因子等转录因子被激活;③热休克因子等转录因子发挥调控作用,靶细胞组成性表达 MICA 等非天然蛋白;④NK 细胞通过 NKG2D 识别 MICA 等“压力诱导”后表达的非天然蛋白,随之 NK 细胞被激活,识别和杀伤靶细胞。

[关键词] NK 细胞; 识别模式; 压力诱导

[中图分类号] R392 [文献标识码] C

[参考文献]

[1] 田志刚,魏海明. NK 细胞受体识别的多样性[J]. 中国免疫学杂志, 2004, 20(1): 28-30.

[2] 魏海明,田志刚. 肿瘤逃逸 NK 细胞攻击的分子机制及逆转作用[J]. 国外医学肿瘤学分册, 2003, 30(1): 17-19.

[3] Cerwenka A, Lanier LL. Natural killer cells, viruses and cancer [J]. Nat Rev Immunol, 2001, 1(1): 41-49.

[4] Fan QR, Long EO, Wiley DC. Crystal structure of the human natural killer cell inhibitory receptor KIR2DL1-HLA-Cw4 complex [J]. Nat Immunol, 2001, 2(5): 452-60.

[5] Lanier LL. On guard-activating NK cell receptors[J]. Nat Immunol, 2001, 2(1): 23-27.

[6] Saulquin X, Gastinel LN, Vivier E. Crystal structure of the human natural killer cell activating receptor KIR2DS2 (CD158j) [J]. J Exp Med, 2003, 197(7): 933-938.

[7] Tomasello E, Blery M, Vely E, et al. Signaling pathways engaged by NK cell receptors: Double concert for activating receptors, inhibitory receptors and NK cells[J]. Semin Immunol, 2000, 12(4): 139-147.

[8] Moretta A, Bottino C, Vitale M, et al. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity

[J]. Annu Rev Immunol, 2001, 19: 197-223.

[9] Jamieson AM, Diefenbach A, McMahon CW, et al. The role of the NKG2D immunoreceptor in immune cell activation and natural killing[J]. Immunity, 2002, 17(1): 19-29.

[10] Wu J, Song Y, Bakker AB, et al. An activating immunoreceptor complex formed by NKG2D and DAP10 [J]. Science, 1999, 285(5428): 730-732.

[11] Gilfillan S, Ho EL, Cella M, et al. NKG2D recruits two distinct adaptors to trigger NK cell activation and costimulation[J]. Nat Immunol, 2002, 3(12): 1150-1155.

[12] Long EO. Versatile signaling through NKG2D [J]. Nat Immunol, 2002, 3(12): 1119-1120.

[13] Bauer S, Groh V, Wu J, et al. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA [J]. Science, 1999, 285(5428): 727-729.

[14] Groh V, Rhinehart R, Randolph-Habecker J, et al. Costimulation of CD8alpha T cells by NKG2D via engagement by MIC induced on virus-infected cells [J]. Nat Immunol, 2001, 2(3): 255-260.

[15] Steinle A, Li P, Morris DL, et al. Interactions of human NKG2D with its ligands MICA, MICB, and homologs of the mouse RAE-1 protein family [J]. Immunogenetics, 2001, 53(4): 279-287.

[16] Radaev S, Rostro B, Brooks AG, et al. Conformational plasticity revealed by the cocrystal structure of NKG2D and its class I MHC-like ligand ULBP3 [J]. Immunity, 2001, 15(6): 1039-1049.

[17] Li P, McDermott G, Strong RK. Crystal structures of RAE-1beta and its complex with the activating immunoreceptor NKG2D [J]. Immunity, 2002, 16(1): 77-86.

[18] Santoro MG. Heat shock factors and the control of the stress response [J]. Biochem Pharmacol, 2000, 59(1): 55-63.

[收稿日期] 2005 - 03 - 18 [修回日期] 2005 - 05 - 15
[本文编辑] 韩 丹

“2005 年度肿瘤生物治疗新进展学术研讨会”于 5 月 27 日在福州市召开

“2005 年度肿瘤生物治疗新进展学术研讨会”于 2005 年 5 月 27 日在福州市福建省肿瘤医院召开。在该院院长郑天荣教授简短的开幕式发言后,中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会主任委员、第二军医大学曹雪涛教授,中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会主任委员、中国医学科学院董志伟教授共同主持了会议。曹雪涛教授作了题为《树突状细胞研究进展》的报告;中科院生物物理所范祖森研究员作了《肿瘤诱导的 CTL 杀伤机制》的报告;生物芯片北京国家工程研究中心张亮博士作了《DNA 芯片技术在肿瘤分子分型中的应用》的报告;中国医学科学院张友会教授和北京大学医学部邱晓彦教授作了《从癌细胞表达免疫球蛋白研究谈科学研究的创新》的报告;中国科学院生物物理研究所王盛典教授作了《B7-1/B7-DC-PD-1 共刺激信号途径及其免疫治疗作用》的报告;中国科技大学免疫学研究所魏海明教授作了《NK 与 NKT 研究进展》的报告。整个研讨会讨论热烈,气氛活跃,专家们就研究工作的经验和进展作了深入的交流,并对未来几年的研究工作作了展望。

[撰稿] 韩 丹